

0- 795195

На правах рукописи

Петр

ИСТОМИНА АЛЕКСАНДРА АНАТОЛЬЕВНА

**РЕАКЦИЯ АНТИОКСИДАНТНОЙ СИСТЕМЫ
У МАССОВЫХ ВИДОВ МОЛЛЮСКОВ
ЗАЛИВА ПЕТРА ВЕЛИКОГО
В УСЛОВИЯХ ДЕФИЦИТА КИСЛОРОДА
И ДЕЙСТВИЯ ИОНОВ Cu^{2+}**

03.08.02 — экология

АВТОРЕФЕРАТ
диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

Владивосток — 2012

Работа выполнена в лаборатории морской экотоксикологии
Федерального государственного бюджетного учреждения науки
Тихоокеанский океанологический институт им. В.И. Ильичева
Дальневосточного отделения Российской академии наук

Научный руководитель: Челомин Виктор Павлович,
доктор биологических наук,
старший научный сотрудник

Официальные оппоненты: Санина Нина Михайловна,
доктор биологических наук, профессор,
профессор кафедры биохимии, микробиологии
и биотехнологии Школы естественных наук
Дальневосточного федерального университета

НАУЧНАЯ БИБЛИОТЕКА КФУ



0000787760

Кавун Виктор Яковлевич
кандидат биологических наук, доцент,
старший научный сотрудник лаборатории
физиологии Института биологии моря
им. А.В. Жирмунского ДВО РАН

Ведущая организация: Федеральное государственное бюджетное
учреждение науки Институт биологии
Карельского научного центра РАН

Защита состоится «17» мая 2012 г. в 14:00 часов на заседании диссертационного совета Д 212.056.02 при ФГАОУ ВПО «Дальневосточный федеральный университет» по адресу: 690091, г. Владивосток, ул. Октябрьская 27, ауд. 435

Отзывы на автореферат просим направлять по адресу: 690091, г. Владивосток, ул. Октябрьская, 27, каб. 417, кафедра экологии ШЕН ДВФУ

Факс: (423) 2459409 E-mail: marineecology@rambler.ru, reswater@yandex.ru

С диссертацией можно ознакомиться в Научной библиотеке ФГАОУ ВПО «Дальневосточный федеральный университет»

Автореферат разослан «13» апреля 2012 г.

Ученый секретарь диссертационного совета,
кандидат биологических наук

Ю.А. Галышева

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность исследования

В результате климатических изменений и интенсивной деятельности человека в различных акваториях высокопродуктивного шельфа Мирового океана все чаще возникают зоны устойчивой гипоксии, приводя к массовой гибели отдельных видов гидробионтов и трансформации существующих экосистем (Wu, 2002).

Кроме того, на жизнедеятельность морских организмов влияет присутствие в морской воде различных токсичных веществ, таких как тяжелые металлы, полициклические ароматические углеводороды, поверхностно-активные вещества, пестициды др. Среди тяжелых металлов медь отличается высокой токсичностью в отношении живых организмов. Повышенный уровень меди в воде приводит к ее аккумуляции морскими организмами и усилению процессов свободнорадикального окисления.

В ряде работ показано, что изменение естественных факторов среды (содержание кислорода, соленость, температура и др.) усиливает повреждающее действие некоторых токсичных веществ, в том числе и тяжелых металлов (Veldhuizen-Tsoerkan, 1991; Fang et al., 2008). Вследствие этого необходимо обращать особое внимание на степень изменения естественных факторов среды при нарастающем поступлении загрязняющих веществ в морскую среду.

Чрезвычайная важность кислорода в жизнедеятельности гидробионтов обуславливает повышенный интерес к изучению особенностей биохимической организации антиоксидантной защитной системы у морских организмов (в частности, у моллюсков) в условиях недостатка кислорода. И особую актуальность приобретает проблема исследования совместного влияния гипоксии/аноксии и загрязнения тяжелыми металлами на выживаемость разных видов моллюсков.

Цель и задачи работы

Цель работы заключалась в исследовании реакции антиоксидантной (АО) системы разных видов моллюсков в адаптации к стрессовым воздействиям гипоксии/аноксии и тяжелых металлов.

Для достижения цели были поставлены следующие задачи:

1. Охарактеризовать ферментативное звено антиоксидантной системы разных видов моллюсков.
2. Провести сравнительный анализ изменений компонентов антиоксидантной системы у разных видов моллюсков и определить степень окислительного повреждения по уровню продуктов перекисного окисления липидов в условиях экспериментальной гипоксии/аноксии.

3. Оценить реакцию компонентов антиоксидантной системы в процессах адаптации моллюсков к стрессу, вызванному гипоксией/аноксией.

4. Охарактеризовать реакцию антиоксидантной системы и уровень окислительного повреждения у разных видов моллюсков на гипоксию/аноксию в условиях металлиндуцированного окислительного стресса.

Научная новизна

Впервые проведен сравнительный анализ реакции компонентов антиоксидантной системы на гипоксию/аноксию у массовых видов дальневосточных моллюсков. Показано, что в условиях дефицита кислорода у факультативных анаэробов развивается окислительный стресс. У исследованных моллюсков выявлена высокая чувствительность отдельных антиоксидантов к воздействию гипоксии/аноксии и меди. Определена взаимосвязь между реакцией антиоксидантной системы (учитывая уровень окислительного повреждения) и эколого-физиологическими особенностями разных видов моллюсков при воздействии гипоксии/аноксии. Обнаружено, что действие гипоксии/аноксии на фоне аккумуляции меди вызывает более значительные изменения биохимических параметров, по сравнению с отдельным действием этих факторов.

Практическая значимость

Для оценки раннего проявления повреждающего действия негативных факторов среды используются различные биохимические показатели, в том числе и показатели окислительного стресса. Поэтому результаты могут быть использованы для научного обоснования предельно допустимых концентраций загрязняющих веществ в воде, для оценки и прогноза состояния популяций промысловых видов, а также при комплексной экотоксикологической характеристике прибрежных акваторий.

Защищаемые положения

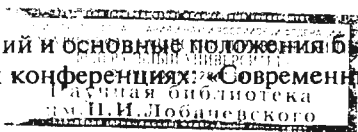
1. В условиях гипоксии/аноксии у моллюсков развивается окислительный стресс, что подтверждается состоянием антиоксидантной системы моллюсков и окислительным повреждением липидов.

2. Характер реакции компонентов антиоксидантной системы к недостатку кислорода определяется эколого-физиологическими особенностями видов.

3. В присутствии в среде ионов Cu^{2+} недостаток кислорода инициирует усиление процессов окислительного стресса в организме моллюсков (по сравнению с отдельным действием этих факторов).

Апробация работы

Результаты исследований и основные положения были представлены на: Международных конференциях: «Современные проблемы



физиологии и биохимии водных организмов» (Петрозаводск, 2010), «Актуальные проблемы освоения биологических ресурсов Мирового океана» (Владивосток, 2010); Всероссийской научной конференции «Проблемы экологии морского шельфа» (Владивосток, 2010); X региональной конференции «Актуальные проблемы экологии, морской биологии и биотехнологии» (Владивосток, 2011); конференции молодых ученых ТОИ ДВО РАН (Владивосток, 2009).

Публикации

По теме диссертации опубликовано 9 работ, из них 4 статьи в журналах из списка, рекомендованного ВАК РФ.

Структура и объем работы Диссертационная работа изложена на 121 странице и включает введение, обзор литературы, материалы и методы исследования, результаты и их обсуждение, выводы, заключение и список литературы (171 источник, из которых 40 на русском и 131 на иностранном языке). Диссертация содержит 21 рисунок и 12 таблиц.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

В главе подробно описаны причины возникновения и последствия воздействия условий гипоксии/аноксии на морские организмы. Рассмотрены основные механизмы адаптации морских организмов к условиям недостатка кислорода. Приведены данные о состоянии антиоксидантной системы морских организмов в стрессовых условиях гипоксии/аноксии и повышенных концентраций тяжелых металлов.

ГЛАВА 2. РАЙОН РАБОТ. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

В работе были использованы двустворчатые моллюски — спизула сахалинская (*Spisula sachalinensis*), мидия Грея (*Crenomytilus grayanus*), приморский гребешок (*Mizuhopecten yessoensis*) и брюхоногие моллюски — литторина маньчжурская (*Littorina mandschurica*), тегула простая (*Tegula rustica*).

Объекты исследования собраны водолазным способом в разных акваториях зал. Петра Великого (рис. 1).

Экспериментальную гипоксию/аноксию создавали при выдерживании моллюсков на воздухе (20-30 часов). На сегодняшний день «выдерживание на воздухе» является широко распространенным подходом в водной экологии для моделирования условий гипоксии/аноксии у водных организмов (Almeida et al., 2005; Romero et al., 2007; Chen et al., 2007).

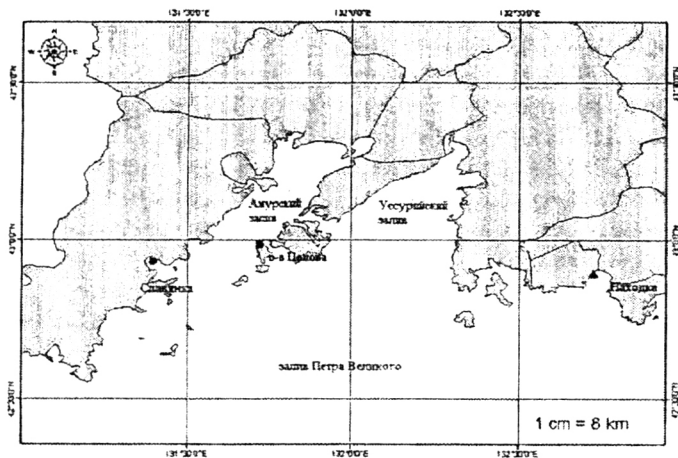


Рис. 1. Карта-схема района работ. Станции сбора материала: ▲ – бух. Прибойная (*L. mandschurica*, *T. rustica*, сентябрь 2008); ● – бух. Северная (*M. yessoensis*, май 2009); ■ – бух. Алексеева (*S. sachalinensis*, *C. grayanus*, июнь 2011)

Эксперимент по оценке состояния антиоксидантной системы при воздействии гипоксии/аноксии на фоне аккумуляции меди состоял из трех серий опытов: 1-я серия, гипоксия/аноксия – выдерживание моллюсков на воздухе при температуре 20 °C в течение 30 ч в случае с *L. mandschurica* и *T. rustica* и 24 ч при температуре 15-17 °C в случае с *C. grayanus*; 2-я серия, выдерживание в воде с CuSO_4 (25 мкг/л воды) в течение 2-х недель; 3-я серия выдерживание в воде с CuSO_4 (25 мкг/л воды) в течение 2-х недель с последующей гипоксией/аноксией.

При определении биохимических параметров использовали пищеварительную железу двустворчатых и гепатопанкреас брюхоногих моллюсков. Концентрацию белка определяли модифицированным методом Лоури (Markwell et al., 1978). Активность супероксиддисмутазы (СОД) определяли по ингибированию реакции окисления НАДН, вызванного супероксидным радикалом (Paoletti et al., 1986). Активность каталазы (КАТ) определяли по скорости распада перекиси водорода (Regoli, Principato, 1995). Активность глутатионредуктазы (ГР) определяли по реакции восстановления окисленной формы глутатиона (Regoli, Principato, 1995). В эксперименте с *L. mandschurica*, *T. rustica* и *M. yessoensis* применяли метод определения интегрального антиоксидантного потенциала (ИАА), основанный на способности антиоксидантов восстанавливать радикал-катион ABTS⁺ (2, 2'-азинобис

(3-этилбензотиазолин 6-сульфонат). Активность выражали в единицах тролокса (Re Roberta et al., 1999). В эксперименте с *S. grayanus* и *S. sachalinensis* оценка ИАА антиоксидантов проводилась согласно их способности подавлять реакцию окисления ABTS пероксильными и алкоксильными радикалами, образующимися при термическом разложении АВАР (2, 2'-азобис (2-аминопропан) гидрохлорид) (Bartosz et al., 1998). Содержание **восстановленного глутатиона (GSH)** определяли по реакции тиогруппы цистеина с дитионитробензойной кислотой (Moron et al., 1979). Степень развития окислительного стресса оценивали по изменению концентрации **продуктов перекисного окисления липидов**: липидных гидроперекисей – ROOH (Hermes-Lima et al., 1995) и малонового диальдегида – МДА (Buege and Aust, 1978).

Все измерения проводили на спектрофотометрах Shimadzu UV-1650 PC и Shimadzu UV-2550 с термостатированной ячейкой. Статистическая обработка полученных результатов выполнена с использованием статистических средств приложения MS Office Excel. О достоверности изменений исследуемых параметров судили по различиям средних значений, используя критерий Стьюдента. В расчетах принят 5% уровень значимости.

ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

3.1. Влияние недостатка кислорода на антиоксидантную систему двустворчатых моллюсков

3.1.1. *Mizuhopecten yessoensis*

M. yessoensis относится к стенооксильным организмам, предпочитает хорошо аэрированные воды с высокой концентрацией растворенного кислорода (5–9 мл · л⁻¹). Поэтому можно рассматривать данного представителя морских двустворчатых моллюсков в качестве уникальной модели для изучения роли про- и антиоксидантных систем в реализации устойчивости к высоким концентрациям кислорода.

В ходе эксперимента было установлено, что воздействие гипоксии/аноксии привело к снижению активности СОД и ГР в пищеварительной железе моллюска (рис. 2). Следует отметить, что, при снижении активности АО ферментов в период гипоксии/аноксии произошло увеличение показателя потенциала антирадикального низкомолекулярного звена АО системы (рис. 3 а), что, возможно, связано со значительным повышением уровня восстановленного глутатиона (почти в 6 раз) (рис. 3 б)

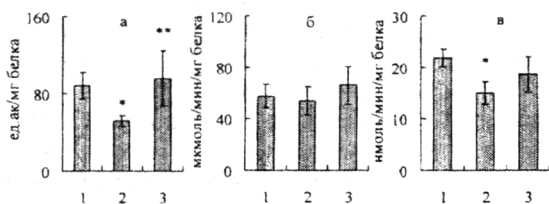


Рис. 2. Активность супероксиддисмутазы (а), каталазы (б), глутатион-редуктазы (в) в пищеварительной железе *M. yessoensis* 1 — нормоксия, 2 — выдерживание на воздухе 20 часов, 3 — реоксигенация 12 часов. * — достоверные различия относительно 1; ** — достоверные различия относительно 2 ($p=4$, $p<0.05$)

Есть все основания полагать, что *M. yessoensis* при гипоксии/аноксии испытывает окислительный стресс, о чем свидетельствует возросший уровень МДА (рис. 3 в).

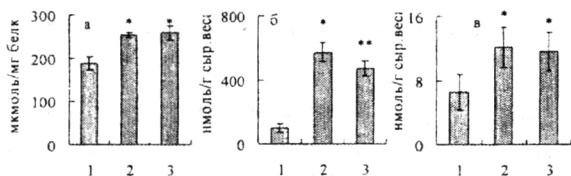


Рис. 3. Уровни интегральной антирадикальной активности (а), глутатиона (б) и малонового диальдегида (в) в пищеварительной железе *M. yessoensis* при различных воздействиях

Условные обозначения как на рис. 2

На способность данного вида моллюска противостоять усиленной генерации АФК при реоксигенации указывает как отсутствие увеличения продуктов ПОЛ по сравнению с гипоксией/аноксией (рис. 3 в), так и восстановление активности антиоксидантных ферментов до первоначального уровня (рис. 2 а, б, в).

Как показали наши результаты, в случае с *M. yessoensis*, по-видимому, основным механизмом, смягчающим развитие окислительного стресса при гипоксии/аноксии, является поддержание высокого уровня низкомолекулярного антиоксиданта — глутатиона. В то время как активация ферментативного звена АО системы в большей степени защищает от разрушительного действия АФК при реоксигенации.

3.1.2. *Crenomytilus grayanus*

Мидии в процессе эволюции приспособились переносить продолжительное действие гипоксии/аноксии (Hicks, McMahon, 2005) и обладают относительно высокой выносливостью к опреснению и высушиванию (выживают на воздухе от 8 до 14 дней в зависимости от температуры окружающей среды (Алякринская, 1979)). Это позволяет рассматривать представителя митилид *C. grayanus* в качестве модели для изучения роли про- и антиоксидантных процессов в реализации устойчивости к длительному пребыванию в условиях низких концентраций кислорода.

Как показали результаты исследования, мидия Грея в условиях недостатка кислорода оказалась способна длительное время поддерживать активность АО ферментов (СОД, КАТ) на базовом уровне, при относительно слабой тенденции к снижению (рис. 4 а, б).

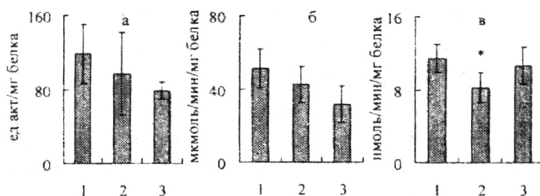


Рис. 4. Активность супероксиддисмутазы (а), каталазы (б), глутатион-редуктазы (в) в пищеварительной железе *C. grayanus*. 1 – нормоксия, 2 – выдерживание на воздухе 24 часа, 3 – реоксигенация 24 часа. * – достоверные различия относительно контроля ($n=4$, $p<0.05$)

Наряду с этим наблюдалось снижение активности ГР (рис. 4 в) и уровня восстановленного глутатиона (рис. 5 б).

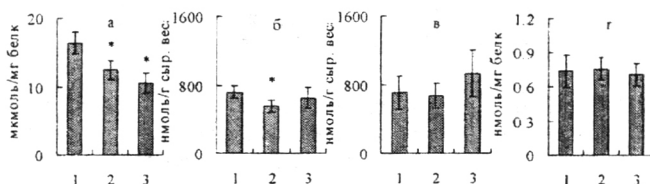


Рис. 5. Уровни интегральной антирадикальной активности (а), глутатиона (б), липидных гидропероксидов (в) и малонового диальдегида (г) в пищеварительной железе *C. grayanus* при различных воздействиях

Условные обозначения как на рис.4

Также произошло и снижение интегрального показателя антирадикальной активности (рис. 5 а), при этом содержание продуктов окислительной деструкции липидов (МДА и ROOH) не увеличилось (рис. 5 в, г).

В условиях реоксигенации активность СОД и КАТ в пищеварительной железе мидии Грея значимо не отличалась от активности этих ферментов при гипоксии/аноксии (рис. 4 а, б). Кроме того, уровни липидных перекисей и МДА остались неизменными (рис. 5 в, г). Реоксигенация также не вызвала изменения антиоксидантного потенциала низкомолекулярного звена (ИАА) антиоксидантной системы по сравнению с гипоксией/аноксией (рис. 5 а). Такая реакция АО системы моллюска на реоксигенацию позволяет сдерживать развитие окислительного стресса в этих условиях.

3.1.3. *Spisula sachalinensis*

Спизула сахалинская способна закапываться в илесто-песчаный (или песчаный) грунт на глубину до 20 см и жить в бескислородных условиях. Естественно предположить, что в основе физиолого-биохимических проявлений устойчивости данного моллюска к недостатку O_2 в среде должны лежать определенные молекулярные механизмы, обеспечивающие не только снабжение клеток энергией в условиях сниженной скорости поступления O_2 , но и функционирование эффективной системы защиты против АФК.

Воздействие гипоксии/аноксии привело к снижению активности СОД и ГР в пищеварительной железе моллюска (рис. 6 а, в)

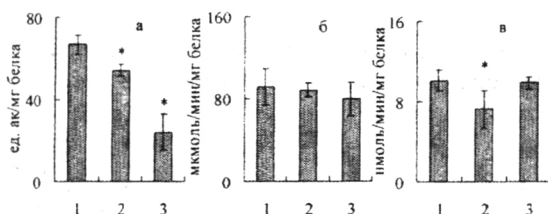


Рис. 6. Активность супероксиддисмутазы (а), каталазы (б), глутатионредуктазы (в) в пищеварительной железе *S. sachalinensis*: 1 — нормоксия, 2 — выдерживание на воздухе 24 часа (гипоксия/аноксия), 3 — реоксигенация 24 часа. * — достоверные различия относительно контроля ($n=4$, $p<0.05$)

Уровень восстановленного глутатиона в условиях экспериментальной гипоксии/аноксии оказался также снижен (рис. 7 б), что, очевидно, связано с уменьшением активности ГР. После реоксигенации

активность ГР вернулась к первоначальному уровню, однако, содержание восстановленного глутатиона осталось низким.

В отличие от гребешка и мидии, показатель интегральной антирадикальной активности низкомолекулярных компонентов (ИАА) у спизулы не изменился в условиях гипоксии/аноксии (рис. 7 а), несмотря на снижение уровня глутатиона.

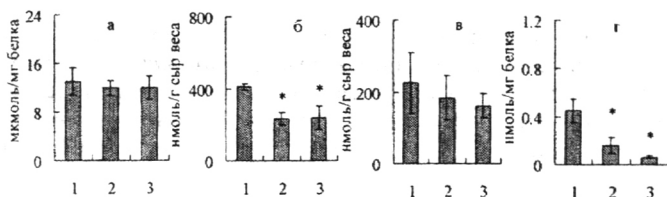


Рис. 7. Уровни интегральной антирадикальной активности (а), глутатиона (б), липидных гидропероксидов (в) и малонового диальдегида (г) в пищеварительной железе *S. sachalinensis* при различных воздействиях

Условные обозначения как на рис. 6

Вероятно, что по сравнению с мидией и гребешком для спизулы характерны особые механизмы выведения и разрушения продуктов перекисного окисления липидов. Так, например, по сравнению с нормоксией наблюдалась тенденция снижения количества гидроперекисей и МДА в пищеварительной железе моллюска, как в условиях гипоксии/аноксии, так и при реоксигенации (рис. 7 в, г).

3.2. Реакция антиоксидантной системы исследованных моллюсков на гипоксию/аноксию в условиях металлндуцированного окислительного стресса

3.2.1. Влияние гипоксии/аноксии на антиоксидантную систему двусторчатого моллюска *Crenomytilus grayanus* в условиях металлндуцированного окислительного стресса

Как показали эксперименты, действие гипоксии на фоне аккумуляции меди приводит к активации АО ферментов мидии Грея, при этом активность исследованных ферментов вернулась к первоначальному уровню (рис. 8).

Таким образом, накопление меди изменило реакцию АО системы моллюска на гипоксию/аноксию (рис. 4; 8). Такая реакция указывает на активацию защитных механизмов против продукции АФК в пищеварительной железе, что также подтверждается неизменным уровнем ИАА и отсутствием накопления продуктов перекисного окисления липидов (рис. 9).

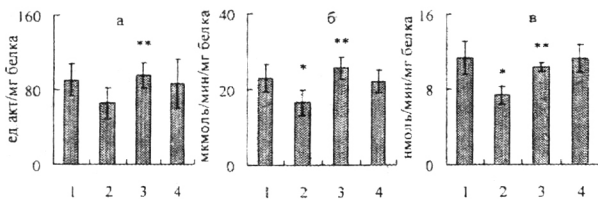


Рис. 8. Активность супероксиддисмутазы (а), каталазы (б), глутатион-редуктазы (в) в пищеварительной железе *C. grayanus* 1 — нормоксия, 2 — воздействие меди, 3 — воздействие меди с последующей гипоксией/аноксией (24 часа), 4 — реоксигенация (24 часа). * — достоверные различия относительно 1, ** — достоверные различия относительно 2 ($n=4$, <0.05)

В период возобновления поступления кислорода в ткани мидии после гипоксии/аноксии отмечалось небольшое увеличение содержания МДА по сравнению с предыдущим воздействием гипоксии на фоне аккумулированной меди (рис. 9 г).

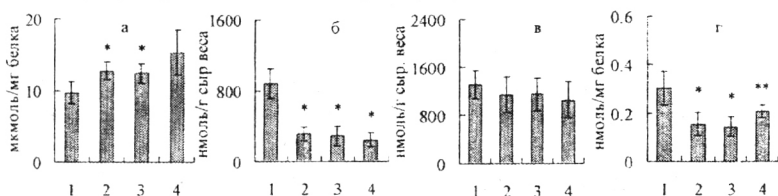


Рис. 9. Уровни интегральной антирадикальной активности (а), глутатиона (б) липидных гидропероксидов (в) и малонового диальдегида (г) в пищеварительной железе *C. grayanus* при различных воздействиях

Условные обозначения как на рис. 8, за исключением: ** - достоверные различия относительно 3

Проведенный эксперимент показал, что как воздействие меди отдельно, так и гипоксии на фоне аккумулированной меди, не приводят к накоплению продуктов перекисного окисления липидов в пищеварительной железе моллюска, что указывает на присутствие у мидии Грея достаточно развитых механизмов АО защиты против повреждающих факторов среды.

3.2.2. Влияние гипоксии/аноксии на антиоксидантную систему брюхоногих моллюсков *Littorina mandschurica* и *Tegula rustica* в условиях металлндуцированного окислительного стресса

Как показал сравнительный анализ, уровни исследованных биохимических параметров существенно различались у двух видов брю-

хоногих моллюсков. Возможно, что высокий уровень конститутивной активности антиоксидантных ферментов (СОД и КАТ) у *L. mandshurica* отражает особенности биохимических механизмов адаптации этого моллюска к специфическим условиям среды обитания (на литорали) (рис. 10 а, б). В тоже время в гепатопанкреасе *T. rustica* обнаружена высокая активность ГР, фермента восстанавливающего окисленный глутатион, что свидетельствует о важной роли глутатиона в механизмах адаптации этого вида (рис. 10 в).

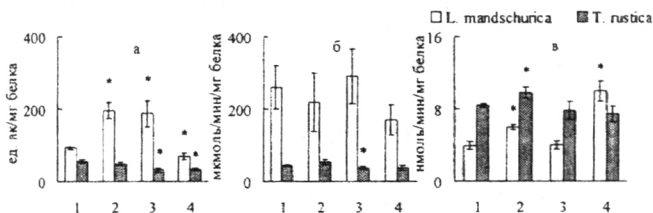


Рис. 10. Активность супероксиддисмутазы (а), каталазы (б) и глутатион-редуктазы (в) в тканях гепатопанкреаса моллюсков: 1 – нормоксия, 2 – выдерживание на воз духе (30 часов), 3 – воздействие меди, 4 – воздействие меди с последующей гипоксией/аноксией (30 часов). * – достоверные различия относительно контроля ($n=4$, $p<0.05$)

Поскольку литторина эволюционно адаптирована к условиям периодической смены прилива и отлива, сопровождающихся возникновением дефицита кислорода, то вполне вероятно, что обнаруженное увеличение в активности ферментов СОД и ГР (рис. 10 а, в), а также уровня низкомолекулярных антиоксидантов при экспериментальной гипоксии/аноксии (рис. 11 а, б) протекает на основе способности быстро реагировать на повышенную продукцию АФК.

У тегулы в условиях недостатка кислорода повысилась активность только ГР (рис. 10 в) и, как у литторины, происходило повышение уровня восстановленного глутатиона (рис. 11 б).

Интересно отметить, что, наряду с увеличением активности антиоксидантных ферментов, содержания глутатиона и показателя ИАА, уровень МДА при гипоксии/аноксии у *L. mandshurica* также увеличился (рис. 11 в).

Присутствие в среде ионов меди существенно изменило реакцию АО системы исследованных моллюсков на условия гипоксии/аноксии. Так, у литторины наблюдалось значительное снижение активности СОД при действии гипоксии/аноксии на фоне аккумуляции меди по сравнению с отдельным действием этих факторов (рис. 10 а).

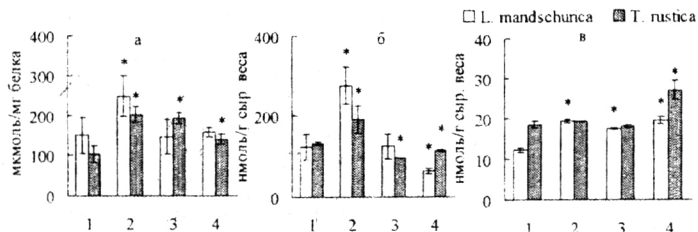


Рис. 11. Уровни интегральной антирадикальной активности (а), глутатиона (б) и малонового диальдегида (в) тканей гепатопанкреаса моллюсков при различных воздействиях

Условные обозначения как на рис. 10

И, несмотря на увеличенную активность ГР (рис. 10 в), происходило снижение уровня восстановленного глутатиона по сравнению с отдельным действием гипоксии/аноксии и меди (рис. 11 б). У *T. rustica*, в отличие от литорины, не произошло изменений активности АО ферментов, однако наблюдалось снижение показателя антирадикальной активности (рис. 11 а) и увеличение уровня МДА (рис. 11 в) при действии гипоксии/аноксии на фоне аккумуляции меди по сравнению с отдельным действием факторов.

3.3. Сравнительная характеристика реакции антиоксидантной системы разных видов моллюсков на условия гипоксии/аноксии

Как показали результаты экспериментов, уровни конститутивной активности АО ферментов у исследованных двустворчатых моллюсков в некоторой степени различались (рис. 12). Так активность СОД у спизулы была ниже по сравнению с мидией и гребешком в 1.8 и 1.3 раза соответственно. В то же время активность каталазы у спизулы была выше, чем у мидии и гребешка почти в 1.8 и 1.6 раза соответственно. У гребешка была обнаружена более высокая активность ГР (почти в 2 раза выше) по сравнению с мидией и спизулой.

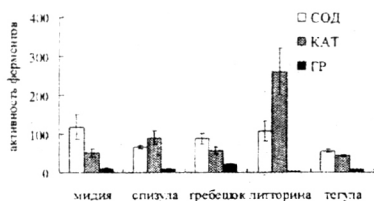


Рис. 12. Активность ферментов супероксиддисмутазы (СОД, ед. акт/мг белка), каталазы (КАТ, мкмоль/мин/мг белка), глутатионредуктазы (ГР, нмоль/мин/мг белка) в пищеварительной железе (гепатопанкреасе) моллюсков

Несмотря на некоторые различия в уровне конститутивной активности АО ферментов в пищеварительной железе двустворчатых моллюсков, их реакция на условия гипоксии/аноксии оказалась схожей. Так, недостаток кислорода привел к подавлению активности АО ферментов в различной степени у данных видов моллюсков (рис. 2, 4, 6).

Реакция низкомолекулярного звена АО системы на условия гипоксии/аноксии была различной у исследуемых видов. Так у *C. grayanus* и *S. sachalinensis* произошло подавление активности низкомолекулярного звена АО системы (рис. 5, 7), а у *M. yessoensis*, наоборот, наблюдалась активация низкомолекулярного звена АО системы (рис. 3).

Скорее всего, подавление активности антиоксидантных ферментов (у мидии, спизулы и гребешка) и снижение уровня глутатиона (у мидии и спизулы) в пищеварительной железе двустворчатых моллюсков является энергосберегающей стратегией вследствие их перехода к анаэробному обмену.

Несмотря на то, что наблюдались существенные различия в конститутивных уровнях биохимических параметров у брюхоногих моллюсков *L. mandschurica* и *T. rustica* (рис. 10, 12), их реакция на условия гипоксии/аноксии была схожей и отличалась от реакции двустворчатых моллюсков. Так, при дефиците кислорода происходила активация как ферментативного, так и низкомолекулярного звена АО системы брюхоногих моллюсков (рис. 10, 11).

Можно предположить, что активация АО системы брюхоногих моллюсков при гипоксии/аноксии, в отличие от двустворчатых моллюсков, определяется способностью поддерживать аэробный метаболизм в этих условиях на высоком уровне и быстро реагировать на повышенную продукцию АФК (Sokolova, Pörtner, 2001).

ВЫВОДЫ

1. Показано, что в основе механизмов неблагоприятного действия гипоксии/аноксии лежит окислительный стресс, который сопровождается образованием продуктов окислительной деструкции липидов и резким изменением параметров антиоксидантной системы (активация и/или ингибирование).

2. Обнаружено, что характер реакции компонентов антиоксидантной системы моллюсков на экспериментальные условия гипоксии/аноксии определяется эколого-физиологическими особенностями видов. Предполагается, что отличия брюхоногих и двустворчатых моллюсков в реакции компонентов антиоксидантной системы на условия недостатка кислорода связаны с особенностями их энергетического метаболизма.

3. Предполагается, что активация антиоксидантной системы брюхоногих моллюсков (*L. mandschurica* и *T. rustica*) при гипоксии/аноксии происходит на основе их способности поддерживать аэробный метаболизм в этих условиях, что позволяет им быстро реагировать на повышенную продукцию активных форм кислорода.

4. Подавление активности ферментов у двустворчатых моллюсков (*C. grayanus*, *S. sachalinensis*, *M. yessoensis*) и снижение уровня низкомолекулярных компонентов антиоксидантной системы (*C. grayanus* и *S. sachalinensis*) в пищеварительной железе, вероятно, является энергосберегающей стратегией вследствие их перехода к анаэробному обмену.

5. По биохимическим показателям окислительного стресса устойчивость исследованных видов моллюсков к условиям экспериментальной гипоксии/аноксии убывает в ряду: *L. mandschurica* и *T. rustica* > *C. grayanus* и *S. sachalinensis* > *M. yessoensis*.

6. Присутствие в среде ионов Cu^{2+} инициирует усиление процессов окислительного стресса при недостатке кислорода в организме брюхоногих моллюсков (по сравнению с отдельным действием этих факторов).

7. У двустворчатого моллюска *C. grayanus* присутствие в среде ионов Cu^{2+} при недостатке кислорода вызывает активацию свободно-радикальных процессов, что приводит к мобилизации ферментативного звена антиоксидантной системы.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

Статьи, опубликованные в ведущих рецензируемых научных журналах

1. Истомина А.А., Довженко Н.В., Челомин В.П. Реакция антиоксидантной системы на аноксию и реоксигенацию у морского двустворчатого моллюска *Scapharca Broughtoni* // Вестник МГОУ, 2010. Серия «Естественные науки» Вып. 4. С. 39-41.

2. Истомина А.А., Довженко Н.В., Бельчева Н.Н., Челомин В.П. Активность антиоксидантных ферментов у разных видов моллюсков в условии гипоксии/аноксии // Известия Самарского научного центра Российской академии наук, 2011. Т. 13. № 1 (5). С. 1106-1108.

3. Истомина А.А., Довженко Н.В., Бельчева Н.Н., Челомин В.П. Раздельное и совместное действие недостатка кислорода и меди на антиоксидантную систему *Littorina mandschurica* // Вестник МГОУ, 2011. Серия «Естественные науки» №1. С. 17-21.

4. Истомина А.А., Довженко Н.В., Бельчева Н.Н., Челомин В.П. Влияние меди на антиоксидантную систему брюхоногих моллюсков *Littorina mandschurica* и *Tegula rustica* в условиях гипоксии // Вестник Санкт-Петербургского университета, 2011. Сер. 3. Вып. 4. С. 25-31.

Работы, опубликованные в материалах региональных, всероссийских и международных конференций

5. Истомина А.А., Довженко Н.В., Бельчева Н.Н. Стресс акклимация антиоксидантной защиты в тканях пищеварительной железы *Littorina mandschurica* в условиях аноксии // Океанологические исследования. Тез. докл. IV конф. молодых ученых ТОИ ДВО РАН. Владивосток: ТОИ ДВО РАН, 2009. С. 61-62.

6. Истомина А.А., Довженко Н.В. Влияние аноксии и реоксигенации на антиоксидантную активность *Mizuhopecten yessoensis* // Современные проблемы физиологии и биохимии водных организмов. Мат-лы III межд. конф. Петрозаводск, 2010. С. 67-68.

7. Истомина А.А., Довженко Н.В., Бельчева Н.Н., Челомин В.П. Влияние меди и недостатка кислорода на антиоксидантную систему брюхоногих моллюсков *Littorina mandschurica* и *Tegula rustica* // Проблемы экологии морского шельфа. Мат-лы всеросс. науч. конф. Владивосток: ДВФУ, 2010. С. 59-63.

8. Довженко Н.В., Истомина А.А., Бельчева Н.Н. Влияние аноксии на биохимические показатели в ткани пищеварительной железы морского брюхоного моллюска *Tegula rustica* // Актуальные проблемы освоения биологических ресурсов Мирового океана. Мат-лы межд. науч. техн. конф. Владивосток: ФГОУ ВПО Дальрыбвтуз, 2010. С. 54-57.

9. Истомина А.А., Довженко Н.В., Бельчева Н.Н. Активность антиоксидантных ферментов у разных видов моллюсков в условии гипоксии/аноксии // Актуальные проблемы экологии, морской биологии и биотехнологии. Мат-лы X региональной конференции студентов, аспирантов вузов и научных организаций Дальнего Востока России. Владивосток, 2011. С. 104-107.

Истомина Александра Анатольевна

**РЕАКЦИЯ АНТИОКСИДАНТНОЙ СИСТЕМЫ
У МАССОВЫХ ВИДОВ МОЛЛЮСКОВ ЗАЛИВА ПЕТРА ВЕЛИКОГО
В УСЛОВИЯХ ДЕФИЦИТА КИСЛОРОДА
И ДЕЙСТВИЯ ИОНОВ Cu^{2+}**

АВТОРЕФЕРАТ

Диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

Специальность: 03.02.08 - экология

Подписано в печать 20.03.2012.
Формат 60x84¹/₁₆. Усл. печ. л. 1,00. Уч.-изд. л. 0,75.
Тираж 100 экз. Заказ № 67

Отпечатано в типографии
Издательского дома ДВФУ
690950, г. Владивосток, ул. Алеутская, 56

102